

Teor de fenóis e flavonoides, atividades antioxidante e citotóxica das folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth (Leguminosae – Mimosoideae)

[Phenols, flavonoids and antioxidant and cytotoxic activity of leaves, fruits, peel of fruits and seeds of *Piptadenia moniliformis* Benth (Leguminosae - Mimosoideae)]

Márcia de Jesus ALVES¹; Arkellau Kenned Silva MOURA¹; Luciana Muratori COSTA²; Éverton José Ferreira de ARAÚJO²; Gardene Maria de SOUSA²; Nagilla Daniela de Jesus COSTA⁴; Paulo Michel Pinheiro FERREIRA⁴; Jurandy do Nascimento SILVA²; Cláudia PESSOA⁵; Sidney Gonçalo de LIMA¹ & Antônia Maria das Graças Lopes CITÓ¹

¹Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Química, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela,

²Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas,

³Centro de Ciências da Natureza, Departamento de Biologia, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela,

⁴Departamento de Ciências Biológicas, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI, Brasil

⁵Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, Brasil
Contactos / Contacts: Antônia Maria das Graças Lopes CITÓ - E-mail address: gracacito@gmail.com

Abstract: The total phenol and flavonoid content, in addition to the antioxidant and cytotoxic activities, of extracts and fractions of *Piptadenia moniliformis* was determined. This honey plant species is commonly known as "catanduba" or "angico de bezerro". The aqueous fraction derived from the peels of the fruits exhibited the highest antioxidant activity, remaining comparable to the standard value, and there was a general correlation between this activity and the phenol and flavonoid content. The antioxidant potential of this species provides a basis for future developments in herbal medicines and cosmetics. Only the hydro alcoholic extract, the dichloromethane fractions and the ethyl acetate fractions showed moderate cytotoxicity.

Keywords: free radical-scavenging activity; honey plant; polyphenols

Resumo: Foram determinados o teor de fenóis e flavonoides, as atividades antioxidante e citotóxica dos extratos e frações de *Piptadenia moniliformis*. Essa é uma espécie melitófila comumente conhecida como "catanduba" ou "angico de bezerro". Das frações testadas, a fração aquosa das cascas dos frutos apresentou a maior atividade antioxidante, com valor comparável ao padrão, e no geral houve correlação do teor de fenóis e flavonoides com essa atividade. Os resultados do potencial antioxidante para essa espécie fornecem subsídios para futuros trabalhos que visem o desenvolvimento de fitoterápicos e cosméticos. Quanto à atividade citotóxica apenas o extrato hidroalcoólico e as frações diclorometano e acetato de etila demonstraram moderada citotoxicidade.

Palavras-chave: atividade sequestradora de radical livre; planta melitófila; polifenóis

Recibido | Received: 24 de Mayo de 2013

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 2 de Septiembre de 2014

Publicado en línea | Published online: 30 de Septiembre de 2014

Declaración de intereses | Declaration of interests: Ao CNPq, CAPES, LPN e UFPI

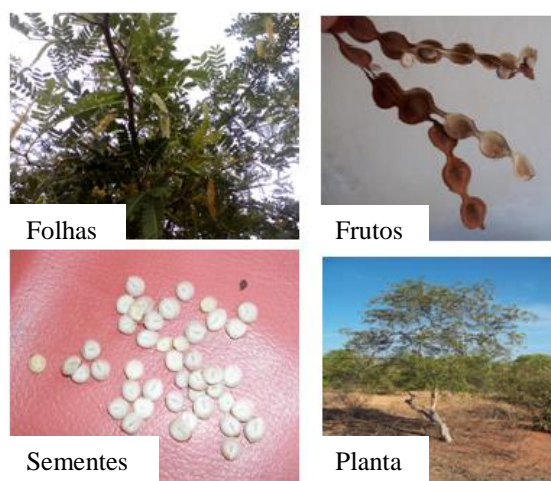
Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: MJ Alves; AKS Moura; LM Costa; ÉJF Araujo; GM Sousa; NDJ Costa; PMP Ferreira; JN Silva; C Pessoa; SG Lima, AMGL CITÓ. 2014. Teor de fenóis e flavonoides, atividades antioxidante e citotóxica das folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth (Leguminosae – Mimosoideae) *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 13 (5): 466 – 476.

INTRODUÇÃO

A família Leguminosae ou Fabaceae é considerada a terceira maior família de Angiospermas depois da Asteraceae e Orchidaceae; compreendendo aproximadamente 727 gêneros e 19.325 espécies (Sousa *et al.*, 2009). O gênero *Piptadenia*, que pertence à subfamília Mimosoideae, conta com aproximadamente 20 espécies (Judd *et al.*, 2002). Na caatinga está representado por sete espécies que incluem árvores apícolas e melitófilas muito comuns na região de clima semiárido do nordeste brasileiro.

Figura 1

Folhas, frutos, sementes de *Piptadenia moniliformis*



A espécie *Piptadenia moniliformis* (Figura 1) é uma planta melitófila muito visitada por abelhas de vários gêneros popularmente conhecida como “catanduba” ou “angico de bezerro” essa espécie foi identificada como sendo pólen acessório de mel e própolis e ainda pólen de abelha sem ferrão constatado em análises palinológicas (Lima Neto, 2009; Lustosa, 2012) de duas microrregiões do estado do Piauí (Monsenhor Gil e Bela Vista) que é um dos estados que se destacam na produção de mel do país.

Os polifenóis compreendem o maior grupo dentre os compostos bioativos nos vegetais, sendo subdivididos em classes, de acordo com a estrutura química de cada substância (Arts & Hollman, 2005). Os principais grupos de polifenóis são os ácidos fenólicos, tendo como exemplos: o ácido clorogênico, presente no café; os estilbenos, como o resveratrol presente nas uvas e vinho; as cumarinas, como as furanocumarinas do aipo; as ligninas, como as lignanas da linhaça; e os flavonoides. Este último grupo é o maior e mais estudado, tendo como principais alimentos-fonte frutas e hortaliças, chás,

cacau, soja, dentre outros (Ross & Kasum, 2002) As ações fisiológicas exercidas pelos polifenóis já foram relacionadas à prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, entre outras, principalmente em função da elevada capacidade antioxidante (Scalbert *et al.*, 2005).

Muitos antioxidantes naturais são conhecidos; como o ácido ascórbico, e outros foram sintetizados e utilizados pela indústria alimentícia para conservação de seus produtos (Gülçin, 2012). No entanto a busca por antioxidantes naturais em extratos de plantas tem chamado atenção, devido aos potenciais usos e aplicações terapêuticas e ainda devido aos não totalmente conhecidos efeitos colaterais dos antioxidantes sintéticos (Alves & Kubota, 2013).

Para a espécie *Piptadenia moniliformis* Benth, há poucos relatos na literatura sobre sua composição química e atividade farmacológica, como os estudos de Silva *et al.* (2011), corroborando que muitas propriedades químicas e farmacológicas de espécies melitófilas da caatinga ainda são desconhecidas, daí o nosso interesse em investigar o seu potencial.

Neste estudo, avaliou-se as folhas, os frutos, as cascas dos frutos e as sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

O material botânico foi coletado nas proximidades do município de São João do Piauí – PI (Latitude: 8.300318, Longitude: 42.1926298° 21' 39" Sul, 42° 15' 4" Oeste). Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário “Graziela Barroso” da Universidade Federal do Piauí, sob o número TEPB: 27.739.

Materiais Reagentes e Equipamentos

Solventes e Reagentes

Todos os solventes e reagentes utilizados foram de grau analítico Vetec, Synth, Quemis, Sigma e grau HPLC (Tedia®). Nas análises espectrofotométricas utilizaram-se ácido gálico (Sigma), reagente de Folin-Ciocalteu (Fluka), rutina (Sigma) quercetina (Sigma), AlCl₃ (Merck) e DPPH (Sigma).

Equipamentos e Instrumentos de Análise

Os materiais vegetais foram moídos, separadamente, em moinho de facas da Marconi, modelo MA 680 e série 98 2422. A evaporação dos solventes a pressão reduzida foi realizada em evaporador rotativo Laborota 4001 – efficient da Heidolph equipado com

bomba de vácuo da Rotavac valve control da Heidolph. Na obtenção de extratos secos, utilizou-se liofilizador Micro modelo Edwards acoplado a uma bomba de alto vácuo ValPump VLP80 Savant.

As pesagens foram realizadas em balança analítica Shimadzu BL3200H e balança semianalítica Digimed KN4000. As transferências de líquidos foram realizadas com o auxílio de micropipetas LABMATE+ com volume variável de 100-1000 µL; e micropipetas Pipetman GILSON com volume máximo de 5000 µL.

Para determinação dos teores de fenóis, flavonoides e atividade antioxidante, utilizou-se espectrofotômetro Lambda 25 UV/Vis Perkin Elmer, AlCl₃ (Merck) e DPPH (Sigma).

Obtenção dos Extratos Hidroalcoólicos de *Piptadenia moniliformis*

O material vegetal foi seco à temperatura ambiente e moído em moinho de facas. Os pós foram macerados com etanol/água na proporção 8:2 à exaustão. A fase orgânica (sobrenadante) foi submetida à filtração simples a cada 72 horas, os extratos hidroalcoólicos reunidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, liofilizados e pesados, obtendo-se extratos hidroalcoólicos brutos secos de folhas, frutos, cascas dos frutos e das sementes. Os rendimentos (%) dos extratos secos foram calculados com base na massa do material vegetal seco.

A partição do extrato hidroalcoólico iniciou-se com a suspensão do extrato em metanol/água 1:1, a seguir, extraiu-se com hexano, obtendo-se a fase hexânica e a fase hidroalcoólica. A fase hexânica foi concentrada em evaporador rotativo à pressão reduzida. Seguindo o mesmo procedimento a fase hidroalcoólica foi extraída com diclorometano e em seguida com acetato de etila, obtendo-se a fração diclorometano, acetato de etila e a fase hidroalcoólica, que foi concentrada a pressão reduzida e liofilizada, rendendo a fração aquosa. As frações obtidas foram pesadas e submetidas à análise do teor de fenóis e flavonoides e da atividade antioxidante.

Fenóis Totais

Preparo das Soluções

Uma solução estoque padrão de ácido gálico a 1000 mg L⁻¹, foi preparada através da dissolução de 0,1 g de ácido gálico em 100 mL de MeOH. Utilizando-se micropipetas foram transferidas alíquotas da solução

estoque de ácido gálico para balões de 10 mL e os padrões foram obtidos por diluição em concentrações no intervalo de 0,4 – 3,9 (0,4; 1,1; 1,8; 2,5; 3,2 e 3,9) mg L⁻¹. Dissolveu-se 15 g de Na₂CO₃ em 100 mL de H₂O. Pesaram-se cerca de 100 mg das amostras e dissolveram-se em 100 mL de MeOH, para obtenção das soluções.

Determinação do Teor de Fenóis Totais

O teor de fenóis totais (FT) nos extratos hidroalcoólicos e frações de *Piptadenia moniliformis* foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu com modificações (Bonoli *et al.*, 2004). Uma alíquota de 100 µL das soluções metanólicas dos extratos hidroalcoólicos brutos e de suas frações a 1000 mg L⁻¹ foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL e acrescidas de 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 5 mL de água destilada e agitação por 1 minuto. Em seguida, adicionou-se 2 mL de Na₂CO₃ 15% e agitou-se por 30 segundos. Completou-se o volume dos balões volumétricos com água destilada. Preparou-se um branco concomitante. As absorbâncias das amostras foram medidas após 2 horas de reação, no comprimento de onda (λ_{max}) 757 nm. Os teores de fenóis totais (FT) foram determinados usando curva analítica de ácido gálico na faixa de 0,4 – 3,9 mg L⁻¹ e os valores foram expressos em equivalentes de ácido gálico por grama de amostra (mg de EAG g⁻¹ de amostra). A equação da reta foi,

$$A = 0,1185.C - 0,0453 \text{ (Eq. 1)}$$

onde A é a absorbância e C a concentração, o coeficiente de correlação linear R = 0,9999. As análises foram realizadas em triplicatas (n = 3) (Sousa *et al.*, 2007).

Flavonoides Totais

Preparo das Soluções

Uma solução estoque padrão de rutina a 1000 mg L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se 0,1 g de rutina em 100 mL de MeOH/H₂O (7:3). As diluições foram preparadas na concentração de 3,0 – 21,0 (3,0; 6,5; 10,0; 13,5; 17,0 e 21,0) mg L⁻¹, para preparar a curva analítica. Dissolveu-se 5 g de AlCl₃ em 100 mL de MeOH. Dissolveu-se 6 g de acetato de sódio monohidratado em 100 mL de H₂O. Pesaram-se cerca de 100 mg das amostras e dissolveu-se em 100 mL de MeOH, obtendo-se as soluções dos extratos hidroalcoólicos e frações de *Piptadenia moniliformis*.

Determinação do Teor de Flavonoides

O teor de flavonoides totais (FLAT) nos extratos hidroalcoólicos e frações de *Piptadenia moniliformis* foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular utilizando solução metanólica de AlCl_3 (Sobrinho *et al.*, 2010). Uma alíquota de 300 μL das soluções metanólicas dos extratos hidroalcoólicos brutos e frações a 1000 mg L^{-1} foi transferida para balões volumétricos de 10 mL seguidos da adição de 240 μL de ácido acético glacial, 4 mL de solução metanólica de piridina 20% e 1 mL de solução de AlCl_3 5%. Em seguida, os volumes dos balões foram completados com água destilada. Realizou-se um branco em paralelo. As medidas de absorvância foram realizadas após 30 minutos de reação, no comprimento de onda (λ_{max}) 420 nm. Os teores de flavonoides totais (FLAT) foram determinados usando uma curva analítica de rutina na faixa de 3,0 – 21 mg L^{-1} e os teores foram expressos em equivalente de rutina por grama de amostra (mg de ER g^{-1} de amostra). A equação da reta foi,

$$A = 0,02618.C - 0,00717 \text{ (Eq. 2)}$$

onde A é a absorvância e C a concentração, o coeficiente de correlação linear $R = 0,9991$. As análises foram realizadas em triplicatas ($n = 3$).

Análise Do Potencial Antioxidante In vitro - Redução Do Radical DPPH

Determinação Quantitativa

A avaliação da atividade antioxidante *in vitro* foi determinada através da capacidade dos extratos hidroalcoólicos e frações de descolorar soluções diluídas do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazila – DPPH – (reação de redução) seguindo procedimento descrito por Tepe & Sokmen, (2007). A quantificação da redução do DPPH foi obtida mediante leitura em 516 nm, sempre fazendo a comparação com padrões (controle positivo).

Inicialmente, foi preparada 50 mL de uma solução estoque de DPPH em metanol na concentração de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ e mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida foram feitas diluições para 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, para a construção da curva analítica.

A curva foi construída a partir dos valores da absorvância da radiação em 516 nm, medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm e tendo como “branco” o metanol. Após obtenção dos valores de absorvância, foi determinada, através de regressão

linear no programa Microcal Origin 7.0©, a equação da curva analítica.

Leitura das Medidas de Absorvância nas Amostras

Foi preparada uma solução estoque ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) das frações e dos extratos hidroalcoólicos e foram realizadas diluições para obtenção de concentrações finais de 500, 250, 200, 150, 100, 50 e $25 \mu\text{g mL}^{-1}$. Da mesma forma, foram preparadas a partir de uma solução estoque ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) dos controles positivos, rutina e ácido gálico, soluções diluídas nas concentrações de 200, 150, 100, 50 e $25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

As medidas das absorvâncias das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostra ou do controle positivo e 2,7 mL da solução estoque de DPPH na concentração de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram feitas a 516 nm no primeiro, quinto e décimo minutos, e, após esse período, a cada 10 minutos até completar 30 minutos. A mistura de metanol (2,7 mL) e extrato (0,3 mL) foi utilizada como branco.

A partir da equação da curva analítica e dos valores de absorvância no tempo de 30 minutos, para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (% DPPHREM), conforme a equação a seguir: (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998; Soler-Rivas *et al.*, 2000)

$$\%DPPH_{REM} = \left\{ \frac{[DPPH]_{T=t}}{[DPPH]_{T=0}} \right\} \times 100 \text{ (Eq. 3)}$$

onde:

$[DPPH]_{T=t}$ = corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com o extrato;

$[DPPH]_{T=0}$ = concentração inicial de DPPH, ou seja, $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ (100 mol mL^{-1}).

A concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE_{50}), foi determinada usando os programas Excel® e Microcal Origin 7.0©, a partir de uma curva exponencial de primeira ordem, obtida plotando na abscissa as concentrações da amostra ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ou do controle positivo e na ordenada, a porcentagem remanescente de DPPH (%DPPHREM) (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998; Espín *et al.*, 2000)).

Os valores de absorvância nas concentrações de 100, 50 e $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, no tempo de 30 min. foram também convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA%), e foram determinados pela

seguinte equação (Tepe & Sokmen, 2007; Huang *et al.*, 2003).

$$\%AA = \frac{\{[Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100\}}{Abs_{controle}}$$

(Eq. 4)

onde Abscontrole é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH e Absamostra é a absorbância da mistura reacional (DPPH+amostra).

Ensaio de Citotoxicidade

As substâncias foram avaliadas quanto a sua capacidade citotóxica frente a 3 linhagens de células tumorais humanas mantidas em cultura (HCT-116, carcinoma de cólon; OVCAR-8, carcinoma de ovário; SF-295, glioblastoma) através do método de MTT (Mosmann, 1983), o qual provou ser uma forma rápida, sensível e barata de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula, baseado na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais (como a succinil desidrogenase) presentes somente nas células metabolicamente ativas (Berridge *et al.*, 1996). As substâncias previamente diluídas em DMSO puro estéril para a concentração estoque de 5 mg/mL foram diluídas seriadamente em meio RPMI para obtenção das concentrações finais (0,04 - 25 µg mL⁻¹) e adicionadas em placa de 96 poços (100 µL/poço) usando sistema automatizado de plaqueamento (High Throughput Screening). O quimioterápico doxorubicina (Dox) foi usado como controle positivo (0,01 - 8,6 µM). Após um período de incubação de 69 h, as placas foram retiradas e centrifugadas a 1500 rpm/15 min. O sobrenadante foi aspirado e foram adicionados 200 µL de solução de MTT 10% em RPMI 1640, sendo a placa colocada na estufa a 5% de CO₂ por 3 h. Em seguida, as placas foram novamente centrifugadas, o sobrenadante foi aspirado e precipitado foi ressuspenso em 150 µL de DMSO e agitado por 10 min até completa dissolução dos cristais de formazan. As placas foram lidas em espectrofotômetro de placas a um comprimento de onda de 595 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e por doenças degenerativas a ele

associadas, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, o declínio da imunidade e disfunções cerebrais (Atoui *et al.*, 2005; Barreiros *et al.*, 2006; Vasconcelos *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2010).

Fenóis e flavonoides são metabólitos secundários importantes devido sua capacidade de sequestrar radicais livres, que são substâncias causadoras de estresse oxidativo quando se encontram em excesso (Alves *et al.*, 2010; Xia *et al.*, 2011). Eles agem contra vírus, bactérias e fungos e tem um papel importante na alimentação, reprodução e desenvolvimento animal (Oliveira *et al.*, 1999). Devido à importância e potencial químico dos flavonoides e seus derivados, são necessárias investigações de novos extratos e frações de material vegetal que possam ser aplicados na indústria alimentícia e farmacêutica visando à descoberta de novas drogas (Kumar *et al.*, 2013).

Fenóis Totais

Os valores médios de polifenóis totais obtidos nas folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis* estão descritos na Tabela 1. Para os extratos e frações analisados, o teor variou de 0,07 a 41,02 mg EAG g⁻¹ de material vegetal seco, sendo que a fração diclorometano das cascas dos frutos apresentou menor teor de polifenóis, enquanto que o extrato hidroalcoólico o maior teor. Observou-se que, de modo geral os extratos hidroalcoólicos e as frações aquosas apresentaram maiores teores de fenóis, enquanto que a fração hexânica e a fração diclorometano apresentaram menores teores, concordantes com a alta polaridade dos compostos fenólicos e a polaridade do solvente.

Constatou-se também que os frutos e suas cascas apresentaram maiores teores de fenóis no extrato hidroalcoólico e na fração aquosa, enquanto que as sementes apresentaram os menores teores para a maioria das frações. Comparando-se os frutos com suas cascas é possível notar um considerável aumento na concentração de compostos fenólicos na fração aquosa e no extrato hidroalcoólico, enquanto que nas frações orgânicas esse aumento não aparece. Ressalta-se que o maior teor de fenóis foi encontrado

nas cascas dos frutos, material que é normalmente descartado nesse tipo de trabalho mesmo que correspondam a cerca de 58% da massa total do fruto.

Rufino *et al.* (2010) classificam o teor de fenóis em três categorias: baixo (<10 mg EAG g⁻¹), médio (10 – 50 mg EAG g⁻¹) e alto (>50 mg EAG g⁻¹) no material vegetal seco. Assim, o extrato hidroalcoólico e a fração aquosa dos frutos e das

cascas dos frutos apresentaram teor médio de fenóis, enquanto as outras frações apresentaram baixo teor.

Silva *et al.* (2011), analisando frutos inteiros de *P. moniliformis* do estado de Pernambuco, determinou o teor de fenóis em 448 ± 8,32 mg EAG g⁻¹, um pouco abaixo do valor encontrado neste trabalho, que foi 471,2 ± 0,6 mg EAG g⁻¹, para a casca do fruto. Isso se deve provavelmente à diferença na origem do material vegetal utilizado.

Tabela 1A
Teor de fenóis das folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis*

Fenóis (mg EAG g ⁻¹ de amostra ou material vegetal seco) (MVS)				
Material	EHA		Hexânica	
	Extrato	MVS	Fração	MVS
Folhas	133,3 ± 7,4	8,2 ± 0,4	120,6 ± 7,2	2,4 ± 0,1
Frutos	160,6 ± 9,5	11,7 ± 0,7	146,6 ± 2,5	6,7 ± 0,1
C.F.	471,2 ± 0,6	41,0 ± 0,1	201,0 ± 15,3	0,1 ± 0,1
Sementes	ND	ND	59,7 ± 10,7	0,3 ± 0,1

Tabela 1B

Fenóis (mg EAG g ⁻¹ de amostra ou material vegetal seco) (MVS)						
Material	DCM		AcOEt		Aquosa	
	Fração	MVS	Fração	MVS	Fração	MVS
Folhas	194,9 ± 7,9	1,7 ± 0,1	330,7 ± 9,8	4,2 ± 0,1	61,5 ± 9,9	4,3 ± 0,7
Frutos	208,8 ± 20,8	0,7 ± 0,1	333,7 ± 10,3	2,3 ± 0,1	141,4 ± 2,1	10,7 ± 0,2
C.F.	85,5 ± 9,0	0,1 ± 0,1	206,6 ± 18,8	0,8 ± 0,1	379,4 ± 31,5	35,7 ± 3,0
Sementes	188,3 ± 17,0	0,1 ± 0,1	248,3 ± 23,5	0,4 ± 0,1	78,2 ± 6,8	3,0 ± 0,3

**EHA: extrato hidroalcoólico; DCM: diclorometano; AcOEt: acetato de etila;
MVS: material vegetal seco; C. F.: cascas dos frutos**

Flavonoides Totais

A Tabela 2A e B apresenta o teor de flavonoides encontrado nas folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *P. moniliformis*. Os valores variaram de 0,07 para a fração hexânica das cascas dos frutos a 10,09 na fração aquosa. As frações que apresentaram

maiores teores de flavonoides foram o extrato hidroalcoólico e a fração aquosa; as frações diclorometano e hexânicas apresentaram menores valores. Os frutos e suas cascas apresentaram maiores teores enquanto que as sementes apresentaram os menores para a maioria das frações.

Tabela 2A
Flavonoides das folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis*

Fenóis (mg EAG g ⁻¹ de amostra ou material vegetal seco) (MVS)				
	EHA		Hexânica	
Material	Extrato	MVS	Fração	MVS
Folhas	127,7 ± 6,0	6,38 ± 0,30	116,60 ± 16,70	1,88 ± 0,27
Frutos	58,1 ± 5,0	4,23 ± 0,36	35,80 ± 4,20	1,63 ± 0,19
C.F.	75,2 ± 5,0	6,55 ± 0,44	124,40 ± 12,10	0,07 ± 0,01
Sementes	127,7 ± 6,0	6,38 ± 0,30	45,80 ± 3,30	0,23 ± 0,02

Tabela 2B

Fenóis (mg EAG g ⁻¹ de amostra ou material vegetal seco) (MVS)						
	DCM		AcOEt		Aquosa	
Material	Fração	MVS	Fração	MVS	Fração	MVS
Folhas	190,50 ± 5,60	1,35 ± 0,04	96,00 ± 4,00	0,99 ± 0,04	67,90 ± 6,90	3,91 ± 0,40
Frutos	203,80 ± 19,40	0,69 ± 0,07	158,70 ± 10,90	1,12 ± 0,08	31,90 ± 2,00	2,42 ± 0,15
C.F.	122,10 ± 11,90	0,11 ± 0,01	204,80 ± 26,60	0,78 ± 0,10	107,00 ± 4,60	10,09 ± 0,44
Sementes	194,40 ± 17,60	0,11 ± 0,01	177,70 ± 13,00	0,32 ± 0,02	56,90 ± 5,70	2,21 ± 0,22

**EHA: extrato hidroalcoólico; DCM: diclorometano; AcOEt: acetato de etila;
MVS: material vegetal seco; C. F.: cascas dos frutos**

Comparando os teores de flavonoides de *P. moniliformis* com os de *Anadenanthera colubrina* obtidos a partir dos estudos de Silva (2012), em que o teor de flavonoides encontrado no extrato etanólico das folhas foi $53,00 \pm 1,44$ mg ER/g MVS, nota-se que o teor obtido do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. moniliformis* foi bem inferior, $6,38 \pm 0,3$ mg ER/g MVS. Vale ressaltar que o gênero *Anadenanthera* foi obtido de uma divisão do gênero *Piptadenia*, essa classificação teve por critérios características morfológicas e a localização geográfica (Queiroz, 2009).

Atividade Antioxidante

Os resultados obtidos para atividade antioxidante *in vitro* frente ao radical DPPH encontram-se na Tabela 3A e B, que apresenta as concentrações eficientes

médias das frações das folhas, frutos e cascas dos frutos de *P. moniliformis*. Quanto menor a CE_{50} , mais antioxidante será o material analisado. Dessa forma, a fração aquosa das cascas dos frutos apresentou maior potencial antioxidante. Todas as amostras apresentaram valores de CE_{50} acima do padrão rotina ($40,45 \pm 0,01$), exceto a fração aquosa das cascas dos frutos ($40,08 \pm 1,94$), com atividade comparável ao padrão.

Devido à baixa atividade antioxidante das sementes, em todas as concentrações e em todas as frações testadas não foi possível calcular a CE_{50} para essa amostra. O percentual de atividade antioxidante, na maior concentração, ou seja, 250 mg L^{-1} foi de $11,64 \pm 1,95 \text{ mg L}^{-1}$ para a fração hexânica; $19,38 \pm 2,37 \text{ mg L}^{-1}$ para a fração diclorometano e $63,38 \pm 6,13 \text{ mg L}^{-1}$ para a fração acetato de etila.

Tabela 3
CE₅₀ das folhas, frutos, cascas dos frutos de *Piptadenia moniliformis*

Fração Material	CE ₅₀		
	EHA	AcOEt	Aquosa
Folhas	-	100,51 ± 8,55	-
Frutos	-	95,35 ± 5,35	-
C.F.	56,36 ± 3,92	118,45 ± 1,96	40,08 ± 1,94
Rutina: 40,45 ± 0,01			

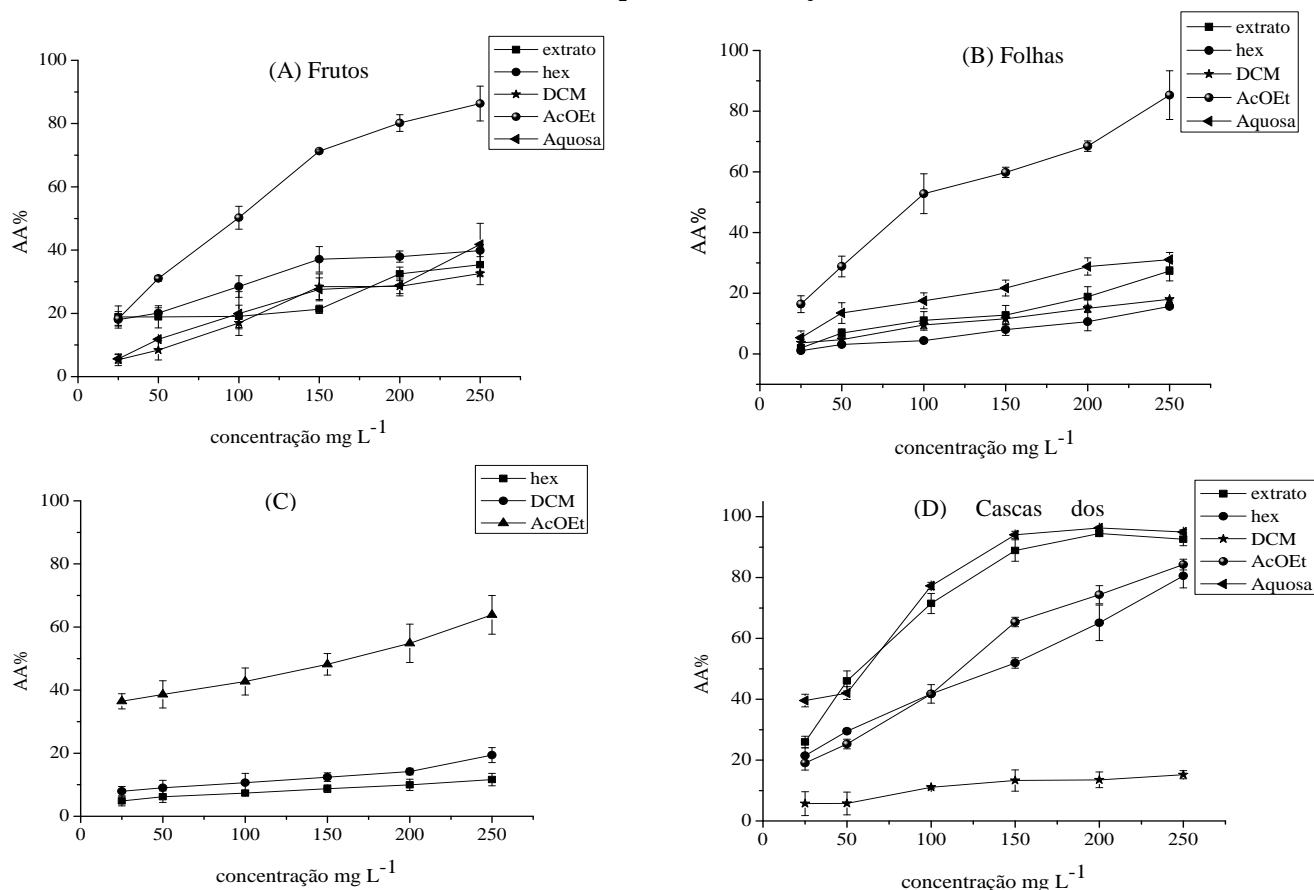
CE₅₀: concentração eficiente média; EHA: extrato hidroalcoólico; AcOEt: acetato de etila; C. F.: cascas dos frutos

A Figura 2 apresenta os gráficos de atividade antioxidante frente ao radical DPPH para os extratos hidroalcoólicos das frações em estudo.

Para os frutos, somente a fração acetato de etila apresentou atividade antioxidante considerável, como pode ser observado no gráfico A. Nas folhas, novamente a fração acetato de etila destaca-se, como

apresentado no gráfico B. Para as sementes, apenas a fração AcOEt apresentou atividade antioxidante significativa, de acordo com o gráfico C. As cascas dos frutos apresentaram os melhores valores de atividade antioxidante, principalmente na fração aquosa e fração acetato de etila, como é mostrado no gráfico D.

Figura 2
Gráficos da atividade antioxidante de *Piptadenia moniliformis* frente ao radical DPPH



Atividade Citotóxica

Todos os extratos e frações foram avaliados quanto ao potencial antiproliferativo *in vitro* em células de tumores humanas (HCT-116, OVCAR-8 e SF-295). Como descrito na Tabela 4, as amostras não

apresentaram atividade citotóxica frente às linhagens estudadas, embora os extratos diclorometano ($43,1 \pm 5,0$ %) e acetato de etila ($29,6 \pm 13,9$) das sementes e hidroalcoólico das cascas dos frutos ($29,7 \pm 3,7$ %) tenham revelado moderada citotoxicidade.

Tabela 4
Atividade citotóxica *in vitro* das folhas, frutos, cascas dos frutos e sementes de *Piptadenia moniliformis*

Extrato / Fração	Linhagens	Percentual de inibição da proliferação (%)				
		Partes da planta				
		Folhas	Frutos	Casca dos Frutos	Sementes	Dox
EHA	HCT-116	$-58,4 \pm 3,1$	$-38,0 \pm 16,4$	$-13,3 \pm 0,9$	--	$98,3 \pm 3,2$
	OVCAR-8	$-5,2 \pm 3,0$	$4,1 \pm 4,1$	$15,3 \pm 5,0$	--	$99,7 \pm 5,3$
	SF-295	$6,1 \pm 5,1$	$17,0 \pm 0,7$	$29,7 \pm 3,7$	--	$100,1 \pm 0,3$
Hexânico	HCT-116	$-30,7 \pm 16,9$	$-41,1 \pm 1,8$	$-6,2 \pm 17,8$	$-32,0 \pm 13,2$	--
	OVCAR-8	$3,3 \pm 2,7$	$23,5 \pm 2,8$	$32,2 \pm 8,6$	$1,3 \pm 2,5$	--
	SF-295	$21,9 \pm 1,1$	$10,7 \pm 0,4$	$25,5 \pm 9,8$	$13,2 \pm 5,6$	--
DCM	HCT-116	$-51,3 \pm 2,9$	$-1,9 \pm 1,5$	$-1,9 \pm 1,5$	$-14,6 \pm 2,6$	--
	OVCAR-8	$5,2 \pm 2,5$	$21,3 \pm 1,3$	$21,3 \pm 1,3$	$43,1 \pm 5,0$	--
	SF-295	$3,2 \pm 2,7$	$7,1 \pm 1,7$	$-7,1 \pm 1,7$	$19,9 \pm 0,0$	--
ACOEt	HCT-116	$-56,5 \pm 0,8$	$-27,5 \pm 3,6$	$-24,4 \pm 8,58$	$-8,6 \pm 0,0$	--
	OVCAR-8	$-3,6 \pm 1,7$	$-13,6 \pm 2,4$	$22,6 \pm 9,7$	$29,6 \pm 13,9$	--
	SF-295	$-4,8 \pm 2,6$	$-11,8 \pm 25,8$	$11,3 \pm 12,0$	$17,1 \pm 3,0$	--

avaliado pelo ensaio do MTT após 72 h de incubação

* Os valores (n=3) correspondem ao percentual de inibição (%) \pm D.P.M (desvio padrão da média) da proliferação de tumores humanos de carcinoma de cólon (HCT-116), de ovário (OVCAR-8) e glioblastoma (SF-295). O quimioterápico doxorrubicina (Dox) foi usado como fármaco padrão (controle positivo). EHA: extrato hidroalcoólico; DCM: diclorometano; ACOEt: acetato de etila

CONCLUSÕES

Os resultados revelaram, no geral, correlação entre os teores de fenóis e flavonoides totais e a atividade antioxidante. Com exceção das sementes, todas as partes estudadas como folhas, frutos e cascas dos frutos possuem potencial antioxidante, sendo este estudo relevante fornecendo informações importantes que para subsidiar futuros trabalhos que visem o desenvolvimento de produtos a partir da espécie *P. moniliformis*. No entanto, essa espécie não mostrou ser promissora para citotoxicidade frente às linhagens de células tumorais testadas.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES, LPN e UFPI

REFERÊNCIAS

Alves CQ, David JM, David JP, Bahia MV, Aguiar RM. 2010. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quim Nova** 33: 2202 - 2210.

Alves E, Kubota EH. 2013. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Rev Bras Cienc Farm** 34: 37 - 41.

Arts ICV, Hollman PCH. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr** 81: 317 - 325.

Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P. 2005. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chem** 89: 27 - 36.

Barreiros ALBS, David JM, David JP. 2006. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova** 29: 113 - 123.

Berridge MV, Tan AS, McCoy KD, Wang R. 1996. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica** 4: 15 - 19.

Bonoli M, Marconi E, Caboni MF. 2004. Free and bound phenolic compounds in barley

- (*Hordeum vulgare* L.) flours. evaluation of the extraction capability of different solvent mixtures and pressurized liquid methods by micellar electrokinetic chromatography and spectrophotometry. **J Chrom** 1057: 1 - 12.
- Espín JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ. 2000. Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. **J Agric Food Chem** 48: 648 - 656.
- Gülçin I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Arch Toxicol** 86: 345 - 391.
- Huang YL, Yeh PY, Shen CC, Chen CCl. 2003. Antioxidant flavonoids from the rhizomes of *Helminthostachys zeylanica*. **Phytochemistry** 64: 1277 - 1283.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue, MJ. 2002. **Plant systematic, a phylogenetic approach**. Ed. 2. Sinauer Associates Inc: Sunderland, Massachusetts, United States.
- Kumar S, Sharma S, Chattopadhyay SK. 2013. The potential health benefit of polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia* and related genera: Ethnobotanical and therapeutic importance. **Fitoterapia** 89: 86 - 125
- Lima Neto JS. 2009. **Pólen de abelhas sem ferrão (*Scaptotrigona sp.*) de Monsenhor Gil – PI: Análise palinológica, constituintes químicos e estudo cinético frente ao DPPH**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Piauí: Teresina, Brasil.
- Lustosa MCG. 2012. **Análise palinológica, investigação da composição química de mel, própolis e pólen de *Apis mellifera* da região de Bela Vista – Piauí**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Piauí: Teresina, Brasil.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin J Sci Technol** 26: 211 - 219.
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods** 65: 55 - 63.
- Oliveira MCC, Carvalho MG, Ferreira DT, Braz-Filho R. 1999. Flavonóides das flores de *Stiffitia chrysantha* Mikan. **Quím Nova** 22: 182 - 184.
- Queiroz LP. 2009. **Leguminosas da caatinga**. Ed. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.
- Ross JA, Kasum CM. 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annu Rev Nutr** 22: 19 - 34.
- Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto F, Mancini-Filho J. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chem** 121: 996 - 1002.
- Sanchez-Moreno C, Larrauri JA, Calixto SF. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J Sci Food Agric** 76: 270 - 276.
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. **Am J Clin Nutr** 81: 215 - 217.
- Silva LCN, Silva Júnior CA, Souza RM, Macedo AJ, Silva MV, Correia MTS. 2011. Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. **Food Chem Toxicol** 49: 2222 - 2228.
- Silva RAC. 2012. **Estudo da composição química das folhas e cascas do caule da planta apícola *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* e atividades antioxidante e citotóxica**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Piauí: Teresina, Brasil.
- Sobrinho TJSP, Gomes TLB, Cardoso KCM, Amorim ELC. 2010. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Quím Nova** 33: 288 - 291.
- Sousa CMM, Cleyton, Silva HR, Vieira-Jr. VM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante LCD, Barros EDS, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH. 2007. Fenóis Totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quím Nova** 30: 351 - 355.
- Sousa JS, Bastos MNC, Rocha, AES. 2009. Mimosoideae (Leguminosae) do litoral paraense. **Acta Amazonica** 39: 799 - 812.
- Tepe B, Sokmen A. 2007. Screening of the antioxidative properties and total phenolic contents of three endemic *Tanacetum*

subspecies from Turkish flora. **Bioresource Technol** 98: 3076 - 3079.

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. 2007. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim Nova** 30: 1323 - 1338.

Xia DZ, Yu XF, Yu XF, Zhu ZY, Zhou ZD. 2011. Antioxidant and antibacterial activity of six edible wild plants (*Sonchus spp*) in China. **Nat Prod Res** 25: 1893 - 1901.